雷公藤吉碱对粘虫成虫飞行肌结构的影响

刘　琳[1], 张　欧[1], 马树杰[1], 马志卿[1,2,*], 张　兴[1,2]

(1. 西北农林科技大学无公害农药研究服务中心, 陕西杨凌 712100; 2. 陕西省生物农药工程技术研究中心, 陕西杨凌 712100)

摘要:【目的】明确雷公藤吉碱对粘虫 *Mythimna separata* 成虫飞行肌结构的影响,为进一步探讨其杀虫机理奠定基础。【方法】采用饲喂法测定了雷公藤吉碱对粘虫成虫的胃毒活性及致毒症状。采用光镜和透射电镜技术,从显微和超微水平观察雷公藤吉碱(300 μg/mL)对粘虫成虫飞行肌结构的影响。【结果】雷公藤吉碱对粘虫成虫具有较强的胃毒作用,其 24 h 致死中浓(LC_{50})值为 194.53 μg/mL;试虫中毒的典型特征为麻痹致死;显微观察显示处理组试虫肌肉组织结构紊乱,肌纤维间距增大,肌膜消解,横纹结构消失,且随中毒程度的加深,病变程度加剧;超微观察显示处理试虫肌细胞结构破坏,肌膜脱落,线粒体肿胀,肌质网扩张,肌原纤维断裂,且随中毒程度的加深,病变呈渐进性加剧。【结论】雷公藤吉碱可致粘虫成虫飞行肌病变,影响肌肉正常收缩,从而引起试虫麻痹致死,其作用靶标可能位于肌肉系统。

关键词: 粘虫; 雷公藤吉碱; 毒性; 飞行肌; 组织病变; 作用靶标

中图分类号: Q965.9　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 0454-6296(2017)07-0782-08

Effects of wilforgine on flight muscular structure in adult *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae)

LIU Lin[1], ZHANG Ou[1], MA Shu-Jie[1], MA Zhi-Qing[1,2,*], ZHANG Xing[1,2] (1. Research & Development Center of Biorational Pesticide, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Research Center of Biopesticide Engineering & Technology of Shaanxi Province, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract:【Aim】This study aims to investigate the effect of wilforgine on muscular structure against adults of the oriental armyworm, *Mythimna separata*, so as to provide basis for further studying its insecticidal mechanisms.【Methods】*M. separata* adults were fed on acetone-sugar water solution of wilforgine to assay the toxicity and poisoning symptoms. The pathological changes in their muscular structure induced by wilforgine (300 μg/mL) were observed by light and electron microscope.【Results】Wilforgine had strong oral toxicity against *M. separata* adults with the LC_{50} value of 194.53 μg/mL. The typical toxicity sign was paralysis leading to death. Microstructural examinations demonstrated that the muscular structure was damaged with increasing spaces between muscular fibers. The sarcolemma was digested and band structures disappeared. The ultrastructural examinations showed shed myolemma, swollen mitochondria and dilated sarcoplasmic in the muscle cells. Moreover, the damage to muscle cells increased with poisoning time.【Conclusion】Wilforgine could induce pathological changes in the flight muscle of *M. separata* adults, leading to death. Thus, the action site of wilforgine may be located in the muscle tissues of this insect.

Key words: *Mythimna separata*; wilforgine; toxicity; flight muscle; pathological change; action target

---

基金项目: 国家自然科学基金项目(31572029)

作者简介: 刘琳, 女, 1990 年 7 月生, 河北保定人, 硕士研究生, 研究方向为农药毒理学, E-mail: 18829782883@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: mazhiqing2000@126.com

收稿日期 Received: 2017-03-15; 接受日期 Accepted: 2017-05-27

植物源天然产物农药是当前创制新农药的热点之一（El-Wakeil, 2013；Gerwick and Sparks, 2014）。该类农药具有对非靶标生物安全、不易产生抗药性、对环境安全等特点（Dayan *et al*., 2009；张兴等, 2015）。更重要的是，植物源农药往往具有新颖的作用靶标和独特的作用机理（Rattan, 2010；Khater, 2012；Miresmailli and Isma, 2014），对于有害生物抗性治理及新型农药的开发均具有重要理论意义和应用价值。

雷公藤 *Tripterygium wilfordii* 为卫矛科（Celastraceae）雷公藤属 *Tripterygium* 植物，是我国传统的中草药和民间常用杀虫剂（罗都强等, 2000；童萍和何东仪, 2016）。其杀虫活性成分是生物碱，包括雷公藤精碱、雷公藤吉碱、雷公藤次碱、雷公藤春碱等，对多种昆虫均具有较强的毒杀、拒食、麻痹、生长发育抑制作用（Luo *et al*., 2004；Ma *et al*., 2014）。组织病理学观察发现，雷公藤总生物碱混合物可致粘虫肌肉组织发生病变，表现为肌原纤维丝崩解、线粒体肿胀及肌质网逐级扩张等；生理生化研究表明，活体和离体情况下，雷公藤总生物碱对粘虫肌质网钙泵具有明显影响（周琳, 2007；谭浩, 2010）。然而，到目前为止，雷公藤生物碱的作用靶标尚不明确，极大地限制了该类杀虫剂的进一步开发和应用。为此，有必要尽快开展雷公藤生物碱的杀虫机理研究。

鉴于雷公藤吉碱为雷公藤生物碱的主要活性成分之一，且含量相对较高（Ma *et al*., 2014），在雷公藤生物碱杀虫剂登记中可以作为主成分或标志性成分，探讨其机理对于揭示雷公藤生物碱的杀虫作用具有代表性。因此，本研究以雷公藤吉碱为研究对象，以粘虫 *Mythimna separata* 为供试昆虫，较系统地观察了雷公藤吉碱处理后粘虫肌肉组织结构的变化，为进一步探讨其作用靶标和机理提供依据。

1　材料与方法

1.1　供试试虫

粘虫 *M. separata*：室内饲养（25 ± 1℃, 相对湿度 70% ~80%, 光周期 12L: 12D）种群，由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心养虫室提供。试验时选择个体大小一致、健康活泼的 1 日龄成虫供试（雌雄各半）。

1.2　供试药剂及化学试剂

雷公藤吉碱（95% 以上，西北农林科技大学无公害农药研究服务中心提供），丙酮等其他试剂均为国产分析纯。

1.3　主要仪器

石蜡切片机（上海精密仪器厂）、YD-6L 智能型生物组织包埋机（浙江益迪医疗设备厂）、YD-6L 智能型生物组织包埋机冷冻台（浙江益迪医疗设备厂）、LEICA ZOOM2000 型双目体视显微镜（上海徕卡仪器有限公司）、NIKON E200 型生物显微镜（日本尼康公司）、LKBU 型超薄切片机切片、JEOL-1 230型透射电子显微镜（日本岛津公司）。

1.4　胃毒活性测定及中毒症状观察

胃毒活性测定采用饲喂法（吴文君, 1988），略有改进。将雷公藤吉碱用丙酮糖水溶液（丙酮∶糖水 =1∶2, v/v）配制成浓度为 25, 50, 100, 200 和 400 μg/mL 的溶液，以青霉素小瓶盛装。挑选 500 头 1 日龄粘虫成虫，饥饿 24 h 后供试。每处理重复 3 次，每重复 15 头试虫，将其放入铺有吸水纸的 1 000 mL大烧杯中，用纱布封口。剪取滤纸（10 cm × 10 cm），折叠成扇形，将一头插入制备好的盛有雷公藤吉碱丙酮糖水溶液的青霉素小瓶中，将小瓶置入 1 000 mL 烧杯中，设丙酮糖水溶液对照。24 h 后，统计粘虫的死虫数。试虫表现为瘫卧不动，口器伸出，给予机械刺激无明显反应，则视为死亡。使用 SPSS 18.0 软件对数据进行处理，并以几率值分析法求毒力回归方程，求出药剂的致死中浓（LC_{50}值）及 95% 置信限。

基于毒力测定结果，以约 LC_{80}的剂量，采用上述方法处理试虫，对照饲喂丙酮糖水溶液，每处理重复 3 次，每重复 20 头。立即观察并描述症状反应，对于典型症状进行拍照记录，并获得处于不同麻醉期的试虫用于以下实验。

1.5　石蜡切片制备

分别选取对照组及处于不同中毒时期的试虫，在 0 ~4℃条件下，迅速剪取中胸背纵肌，于布安氏固定液中固定24 h，分别将其修成长 2 mm、宽 1 mm 的小组织块。然后用常规方法脱水、透明、石蜡包埋、切片（5 ~7 μm）、脱蜡、复水、苏木精-伊红（HE）双重染色、再脱水、透明、封片，干燥后，用生物显微镜观察拍照（Lü *et al*., 2010）。

1.6　超薄切片制备

分别选取对照组及处于不同中毒时期的试虫，迅速剪取中胸背纵肌，在 4℃ 条件下将取下的肌肉组织用 2.5% 戊二醛前固定、1% 锇酸后固定、系列乙醇脱水、白胶包埋制样、LKBU 型超薄切片机切片、醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色，用 JEOL-1230

型透射电子显微镜观察拍照，加速电压为 80 kV。

2 结果

2.1 雷公藤吉碱对粘虫成虫毒力测定及成虫中毒症状观察结果

采用饲喂法测定了雷公藤吉碱对粘虫成虫的胃毒毒力，测定结果表明雷公藤吉碱对粘虫成虫具有较强的胃毒活性，采用几率值分析法测得毒力回归方程为 $Y = 1.83X - 4.20$ ($\chi^2 = 0.125$)，其 24 h 致死中浓度(LC_{50})为 194.53 μg/mL(95% 置信区间为 143.13 ~ 291.30 μg/mL)。

以浓度为 300 μg/mL 雷公藤吉碱丙酮糖水(丙酮: 糖水 = 1 : 2, v/v)溶液饲喂处理粘虫成虫后，持续观察其中毒症状，结果(图 1)显示：随着处理时间延长，中毒试虫逐步麻痹、瘫软，并死亡。根据中毒程度的不同，可以将其分为 3 个阶段：轻度麻醉期，中度麻醉期和深度麻醉期。各阶段的主要特征为：处理 2 h 后，试虫由正常爬行变为行走趔趄，反复摔倒爬起，能起飞但马上摔落，上述现象为轻度麻醉(图 1: B)，而对照组试虫健康活泼，能正常吸食营养液(图 1: A)；约 6 h 后，部分中毒试虫侧或仰卧于瓶底，不能爬行，口器伸出并微微颤抖，给以轻微刺激，翅膀可以挣扎扇动却无法飞行，此为中度麻醉(图 1: C)；约 16 h 后，大部分试虫静卧不动，足呈半伸展状，口器伸出无法收回，有的分叉，翅膀摊平，触其腹部，如碰稀泥，失去弹性，肛门排出淡黄色液体，在解剖镜下观察，发现触角、足偶有颤动，此时试虫进入深度麻醉(图 1: D)。随后，逐渐死亡。

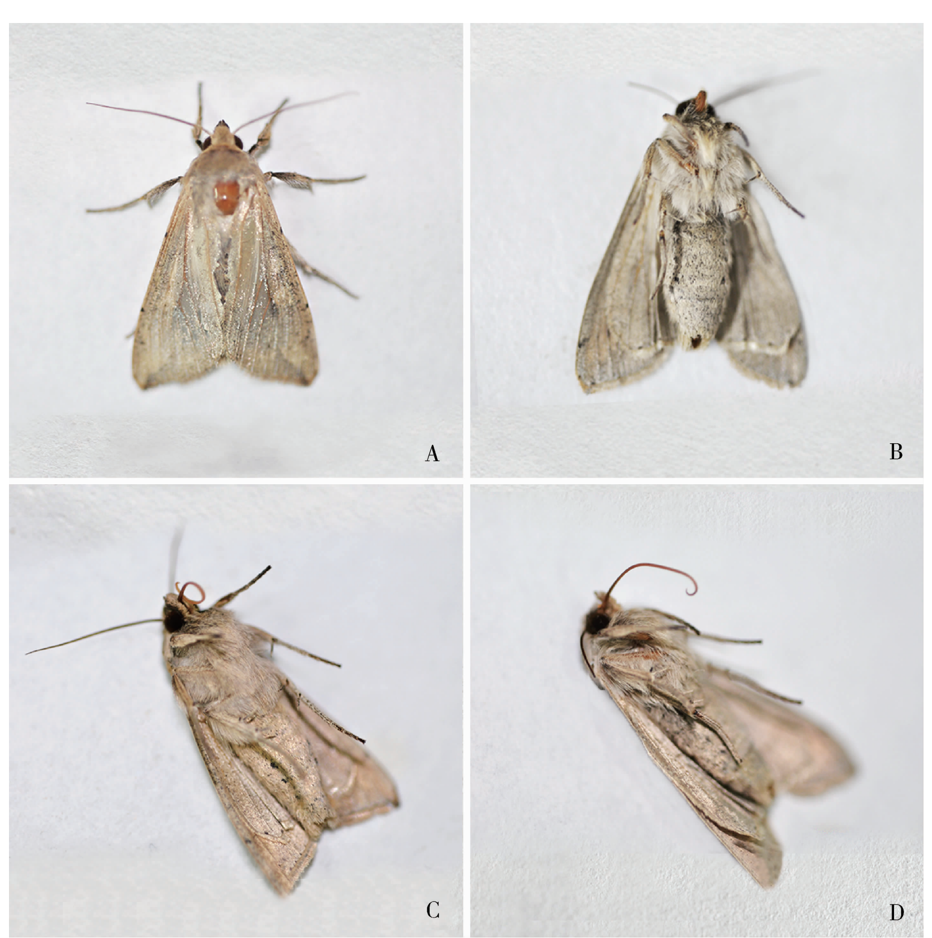


图 1 雷公藤吉碱对粘虫成虫的致毒症状

Fig. 1 Toxicity signs observed on *Mythimna separata* adults treated with wilforgine

A: 对照试虫(饲喂丙酮糖水溶液) Control adult (fed on acetone-sugar water solution); B: 轻度麻醉期试虫(饲喂 300 μg/mL 雷公藤吉碱丙酮糖水溶液) Poisoned adult in the weak paralysis stage (fed on 300 μg/mL acetone-sugar water solution of wilforgine); C: 中度麻醉期试虫(饲喂 300 μg/mL 雷公藤吉碱丙酮糖水溶液) Poisoned adult in the moderate paralysis stage (fed on 300 μg/mL acetone-sugar water solution of wilforgine); D: 深度麻醉期试虫(饲喂 300 μg/mL 雷公藤吉碱丙酮糖水溶液) Poisoned adult in the deep paralysis stage (fed on 300 μg/mL acetone-sugar water solution of wilforgine).

2.2 雷公藤吉碱对粘虫成虫肌肉组织结构的影响

选取对照组及处理组轻度麻醉、中度麻醉和深度麻醉期的试虫，迅速剪取中胸背纵肌，制成石蜡切片后用生物显微镜观察拍照，结果见图 2(A－H)。

图 2(A)表明，对照组试虫的肌肉组织结构完整，肌纤维排列有序，染色均匀，肌膜结构完好；且细胞核、横纹结构清晰可见(图 2：B)。在轻度麻醉期，处理组试虫的肌纤维排列开始紊乱(图 2：C)；横纹结构模糊，但肌膜、细胞核未见明显异常(图 2：D)；至中度麻醉期，部分肌膜破裂，肌纤维断裂，结构松散(图 2：E)；同时细胞核暴露，肌浆溢出，横纹结构紊乱(图 2：F)；至深度麻醉期，部分肌膜消解，肌纤维断裂加剧(图 2：G)；且细胞核模糊，横纹结构彻底消失(图 2：H)。

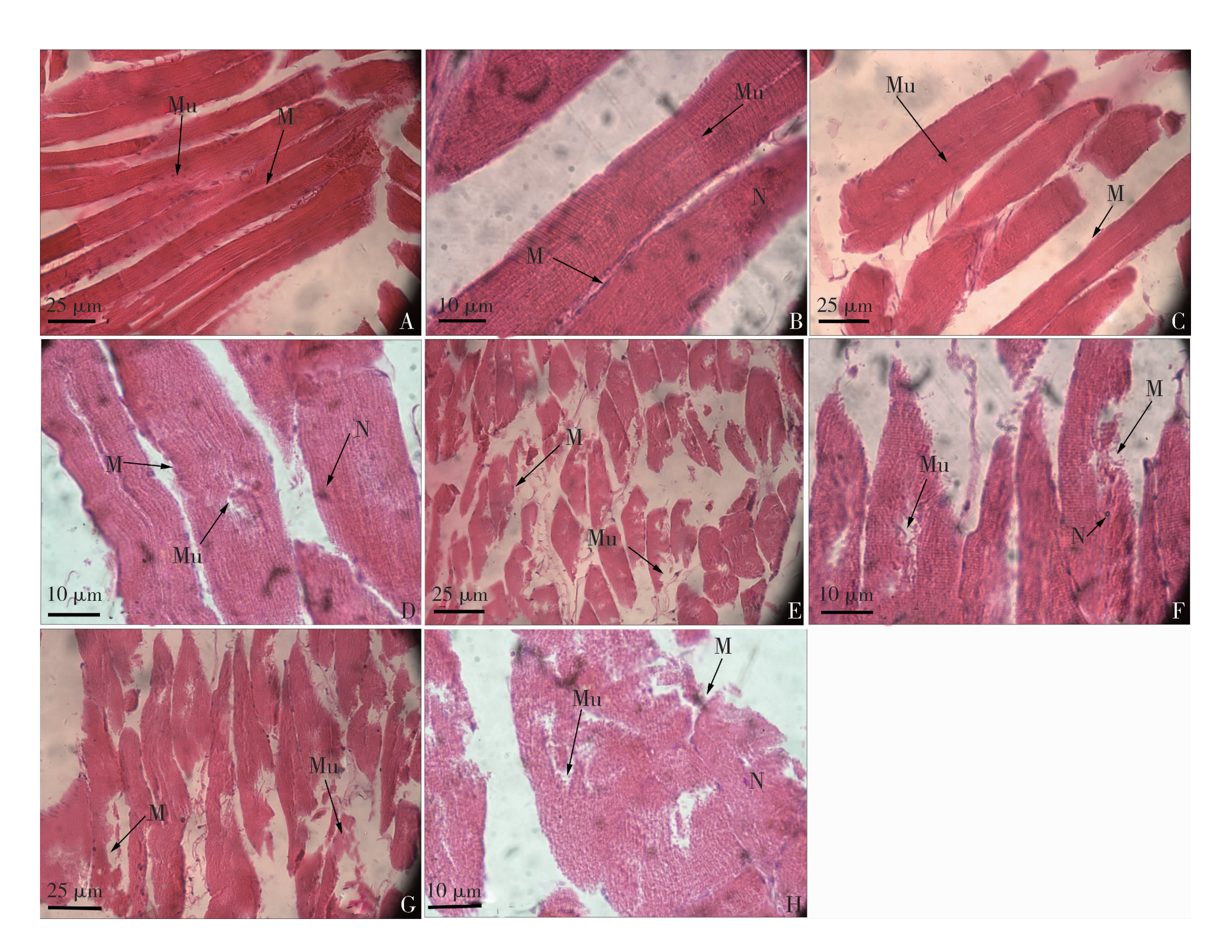


图 2　粘虫成虫取食雷公藤吉碱(300 μg/mL)后肌肉组织结构的病理变化

Fig. 2　Pathological changes of flight muscles of *Mythimna separata* adults treated with 300 μg/mL wilforgine

A：对照组试虫飞行肌肌纤维排列致密，染色均匀，肌膜结构完好 Compact and uniform dyed muscle fiber and intact myolemma of the untreated adults；B：对照组试虫飞行肌细胞核结构完整，横纹结构清晰可见 Intact nucleus and distinct band structures of the untreated adults；C：处理组试虫轻度麻醉期，飞行肌结构被破坏，肌纤维排列开始紊乱 Irregularly arranged muscle fiber of poisoned adults in the weak paralysis stage；D：处理组试虫轻度麻醉期，飞行肌肌膜、细胞核未见明显异常，横纹结构排列紊乱 Little changes in the muscle cell nucleus and myolemma, and disorganized band structure of treated adults in the weak paralysis stage；E：处理组试虫中度麻醉期，飞行肌部分肌膜破裂，肌纤维开始断裂，结构松散 Partially broken myolemma and more incompact and distributed irregularly muscle fiber of poisoned adults in the moderate paralysis stage；F：处理组试虫中度麻醉期，飞行肌细胞核暴露，肌浆溢出，横纹结构模糊 Exposed nucleus with overflowing content and obscure band structure in the moderate paralysis stage；G：处理组试虫深度麻醉期，飞行肌部分肌膜消解，肌纤维断裂加剧 Disappeared myolemma and cracked thoroughly muscle fiber of poisoned adults in the deep paralysis stage；H：处理组试虫深度麻醉期，细胞核模糊，横纹结构彻底消失 Fuzzy nucleus and disappeared band structure in the deep paralysis stage. Mu：肌纤维 Muscle；M：肌膜 Myolemma；N：细胞核 Nucleus.

2.3 雷公藤吉碱对粘虫成虫肌细胞超微结构的影响

选取对照组及处理组轻度麻醉、中度麻醉和深度麻醉期试虫,迅速剪取中胸背纵肌,制成超薄切片后用透射电子显微镜观察拍照,结果见图 3(A–L)。

图 3(A)表明,对照组试虫的飞行肌肌膜完好,细胞核结构完整,核物质均一,核仁清晰可见;且 Z-线致密清晰,肌质网形状规则,肌原纤维纵切为圆柱型,排列整齐(图 3: E);肌原纤维周围紧密排列的卵圆形线粒体的内嵴丰富,膜结构完好(图 3: I)。在轻度麻醉期,试虫肌细胞结构开始发生一系列轻微病变,核物质浓缩,异染色质增多(图 3: B);肌质网开始扩张,Z-线弥散,部分肌丝开始断裂(图 3: F);且线粒体微肿胀,内嵴断裂,开始出现空白亮区,电子致密度下降(图 3: J);至中度麻醉期,肌细胞的核膜破裂,核物质浓缩加剧(图 3: C);肌原纤维间距增大,Z-线模糊,致使肌节排列紊乱,肌质网继续扩张(图 3: G);且线粒体肿胀加剧,空泡化,形状扭曲(图 3: K);至深度麻醉期,飞行肌细胞结构完全破坏,核膜消解,核物质溢出,核周围呈现大量空泡状结构,肌膜、底膜脱落(图 3: D);肌原纤维排列紊乱、断裂,Z-线模糊甚至消失,肌质网扩张严重,形状极其不规则(图 3: H);且线粒体结构完全破坏,内嵴消失,呈现空白亮区(图 3: L)。

3 讨论

3.1 雷公藤吉碱的主要致毒症状为麻痹致死

麻痹是杀虫剂的典型症状之一(张克斌和张六谦, 1989)。阿维菌素类、拟除虫菊酯类、沙蚕毒素类和双酰胺类杀虫剂的中毒症状中均有试虫麻痹的特征(马志卿, 2002)。本研究发现,雷公藤吉碱处理后,试虫无其他明显中毒反应,主要是逐步麻痹、瘫软死亡。该症状与上述杀虫剂的典型致毒症状较为相似。可见,麻痹致死为雷公藤吉碱的主要致毒症状。

然而,阿维菌素等上述杀虫剂的作用机制完全不同。阿维菌素是谷氨酸门控氯离子通道变构调节剂,拟除虫菊酯作用于神经膜上的钠通道,沙蚕毒素是乙酰胆碱受体阻断剂(IRAC, 2017);而双酰胺类杀虫剂主要作用于昆虫鱼尼丁受体,致使肌肉皱缩并麻痹,继而死亡(Jeanguenat, 2013; Qi *et al*., 2014)。由于昆虫中毒所表现的表面症状,实际上是各种机理的综合表现(钦俊德,1980),这种机理的复杂性使我们不能简单根据症状来判断其作用部位。因此,雷公藤吉碱的作用机理可能与上述杀虫剂类同,也可能不同,尚待进一步研究。

3.2 雷公藤吉碱的分子靶标可能位于昆虫的肌肉系统

昆虫通过肌肉系统来维持其形态,通过肌肉的伸缩实现各种行为活动,如爬行、跳跃、飞行、交尾、产卵等(许再福, 2009)。肌肉组织结构破坏必然导致昆虫各种生理活动及行为无法正常进行(王荫长, 2004)。刘惠霞等(2003)研究发现苦皮藤素 V 可致粘虫肌细胞质膜和内膜系统破坏而影响肌肉收缩,中毒试虫丧失飞行能力,进而被麻痹。周琳(2007)研究发现雷公藤总生物碱可明显破坏肌细胞结构,导致肌原纤维断裂,引起昆虫无法取食和飞翔,麻痹至死。

本研究发现,中毒试虫肌肉组织发生明显的病理学变化:显微观察发现,肌纤维间距增大,排列紊乱,肌膜消解,横纹结构消失;进一步用电子显微镜观察发现,肌膜脱落,线粒体崩解,肌质网扩张,肌原纤维断裂。鉴于此,我们推测雷公藤吉碱的作用部位可能位于昆虫的肌肉系统。其机理可能为:雷公藤吉碱破坏肌膜,导致肌细胞兴奋传导受阻,内膜结构破裂导致钙稳态失衡,且线粒体的瓦解直接影响 ATP 供应,而肌原纤维断裂直接导致肌肉不能正常收缩,试虫进入麻痹状态,随后,随着病变程度的加剧,肌肉组织逐渐瓦解,试虫死亡。

目前,仅鱼尼丁受体毒剂为已商品化的肌肉毒剂(IRAC, 2017)。Mackrill(2010)研究发现,鱼尼丁受体毒剂能高效激活昆虫鱼尼丁受体,使细胞钙库中的钙离子过度释放,抑制昆虫取食,引起虫体肌肉收缩,抽搐和麻痹,最终导致害虫死亡。而本试验研究发现,中毒试虫肌肉极度舒张,瘫软麻痹,继而死亡,症状与鱼尼丁受体毒剂恰好相反,但二者均可明显导致肌肉功能障碍。鉴于此,我们推测雷公藤吉碱的分子靶标可能与鱼尼丁受体毒剂不同。但需要进一步的深入探讨。

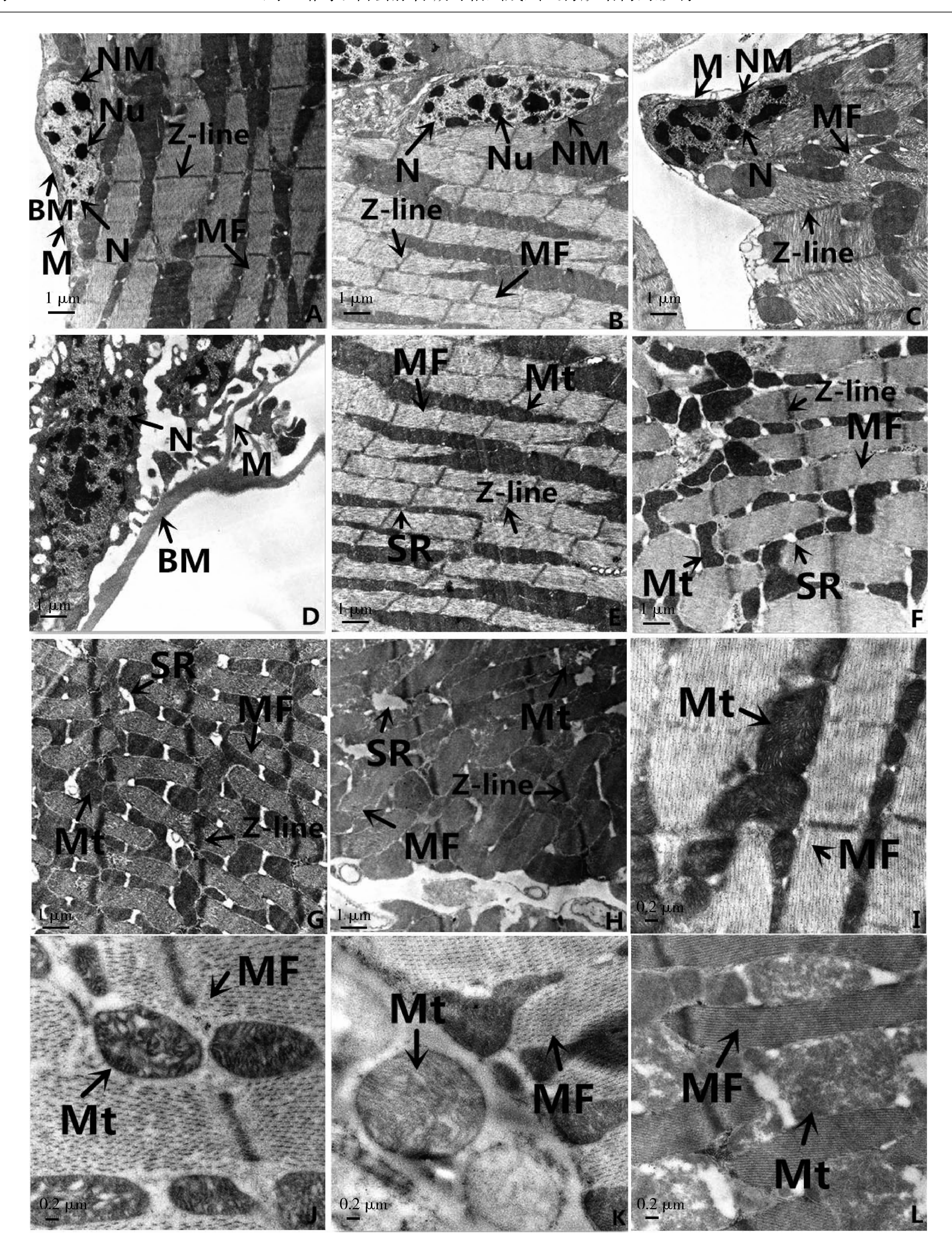


图 3　粘虫成虫取食雷公藤吉碱(300 μg/mL)后飞行肌细胞超微结构变化

Fig. 3　Ultrastructural changes of flight muscles of *Mythimna separata* adults treated with 300 μg/mL wilforgine

A：对照组试虫，飞行肌肌膜完好，细胞核结构完整，核物质均一，核仁清晰可见 Clear double-membrane structure of the cell nucleus and uniform nuclear material in the control group；B：处理组试虫轻度麻醉期，飞行肌结构开始发生病变，核物质浓缩，异染色质增多 Nuclear material appears to concentrate at one spot; the amount of heterochromatin has increased in the weak paralysis stage；C：处理组试虫中度麻醉期，肌细胞的细胞核核膜破裂，核物质浓缩加剧 Nuclear membranes have fractured, and the nuclear material is concentrated intensively in the moderate paralysis stage；D：处理组试虫深度麻醉期，飞行肌肌细胞结构完全破坏，核膜消解，核物质溢出，核周围呈现大量空泡状结构，肌膜、底膜脱落 The flight muscle cells in adults are completely destroyed; the nuclear membranes are eliminated with nuclear material overflowing; a large number of cavity bubbles can be seen

around the cell nucleus in the deep paralysis stage; E: 对照组试虫,肌细胞肌原纤维纵切为圆柱型,Z-线明显,形状规则,排列整齐 Myofibril length cutting shape is cylindrical ; Z-lines are regular and neat rows in the control group; F: 处理组试虫轻度麻醉期,肌质网开始扩张,Z-线弥散,部分肌丝开始断裂 The sarcoplasmic reticulum has begun expanding; Z-lines are faint, and myofibrils show partial damage in the weak paralysis stage; G: 处理组试虫中度麻醉期,Z-线模糊,致使肌节排列紊乱;肌质网继续扩张 Myofibril sarcomere are disordered, Z-lines are fuzzy, and the sarcoplasmic reticulum continues to expand in the moderate paralysis stage; H: 处理组试虫深度麻醉期,Z-线模糊甚至消失,肌原纤维排列紊乱、断裂;肌质网扩张严重,形状极其不规则 Z-lines disappear; myofibrils are erratically arranged and fractured; and the sarcoplasmic reticulum expand seriously in the deep paralysis stage; I: 对照组试虫,肌细胞线粒体多为圆形或椭圆形,结构完好,内嵴丰富,与肌原纤维排列紧密 Mitochondrias are round or oval in shape with a completely intact double membrane structure, rich and full crests; a tight and intact sarcoplasmic reticulum surrounds by myofibrils in the control group; J: 处理组试虫轻度麻醉期,肌细胞线粒体微肿胀,内嵴断裂,开始出现空白亮区,电子致密度下降 Mitochondrias show irregular swelling with fractured cristae, and begin to appear blank bright area; electron density decrease in the weak paralysis stage; K: 处理组试虫中度麻醉期,肌细胞线粒体继续肿胀,空泡化,形状扭曲 Mitochondria appear to be swollen and vacuolated, and the shape of mitochondrias appears to be warped in the moderate paralysis stage; L: 处理组试虫深度麻醉期,肌细胞线粒体结构完全破坏,内嵴消失,呈现空白亮区 Mitochondria are completely fractured with disappeared cristae, and then absolutely show blank bright area in the deep paralysis stage. BM: 底膜 Basilar membrane; M: 肌膜 Myolemma; NM: 核膜 Nuclear membrane; N: 细胞核 Nucleus; Nu: 核仁 Nucleolus; MF: 肌原纤维 Myofibril; Mt: 线粒体 Mitochondria; Z-line: Z-线; SR: 肌质网 Sarcoplasmic reticulum.

参考文献(References)

Dayan FE, Cantrell CL, Duke SO, 2009. Natural products in crop protection. *Bioorg. Med. Chem.*, 17: 4022 – 4034.

El-Wakeil NE, 2013. Botanical pesticides and their mode of action. *Gesunde Pflanz.*, 65: 125 – 149.

Gerwick BC, Sparks TC, 2014. Natural products for pest control: an analysis of their role, value and future. *Pest Manag. Sci.*, 70: 1169 – 1185.

IRAC, 2017. IRAC Mode of Action Classification Scheme, Version 8.2. http://www.irac-online.org/documents/moa-classification/?ext=pdf, March 2017/May 2017.

Jeanguenat A, 2013. The story of a new insecticidal chemistry class: the diamides. *Pest Manag. Sci.*, 69: 7 – 14.

Khater HF, 2012. Prospects of botanical biopesticides in insect pest management. *Pharmacologia* , 3(12): 641 – 656.

Liu HX, Yang CJ, Lian XH, Wu WJ, 2003. Effects of celangulin Ⅴ on muscle cells of *Mythimna separata*. *Acta Entomol. Sin.*, 46(4): 417 – 423. [刘惠霞, 杨从军, 廉喜红, 吴文君, 2003. 苦皮藤素Ⅴ对东方粘虫肌细胞的影响. 昆虫学报, 46(4): 417 – 423]

Lü M, Wu WJ, Liu HX, 2010. Effects of fraxinellone on the midgut ultrastructural changes of *Mythimna separata* Walker. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 98: 263 – 268.

Luo DQ, Zhang X, Feng JT, 2000. The research progress of insecticidal plant *Tripterygium wilfordii*. *Acta Univ. Agric. Boreali-occid.*, 28(3): 84 – 89. [罗都强, 张兴, 冯俊涛, 2000. 杀虫植物雷公藤研究进展. 西北农业大学学报, 28(3): 84 – 89]

Luo DQ, Zhang X, Tian X, Liu JK, 2004. Insecticidal compounds from *Tripterygium wilfordii* active against *Mythimna separata*. *Z. Naturforsc.*, 59c: 421 – 426.

Ma ZQ, 2002. Studies on the Relationship between the Symptoms and Mechanism of Different Kinds of Insecticides. PhD Dissertation, Northwest of A&F University, Yangling, Shaanxi. [马志卿, 2002. 不同类杀虫药剂的致毒症状与作用机理关系研究. 陕西杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文]

Ma ZQ, Li YJ, Wu LP, Zhang X, 2014. Isolation and insecticidal activity of sesquiterpenes alkaloids from *Tripterygium wilfordii* Hook f. *Ind. Crop Prod.*, 52: 642 – 648.

Mackrill JJ, 2010. Ryanodine receptor calcium channels and their partners as drug targets. *Biochem. Pharmacol.*, 79: 1535 – 1543.

Miresmailli S, Isma MB, 2014. Botanical insecticides inspired by plant herbivore chemical interactions. *Trends Plant Sci.*, 19(1): 29 – 35.

Qi S, Lümmen P, Nauen R, Nauen R, Casida JE, 2014. Diamide insecticide target site specificity in the *Heliothis* and *Musca* ryanodine receptors relative to toxicity. *J. Agric. Food Chem.*, 62: 4077 – 4082.

Qin JD, 1980. Advances in Insect Physiology. Science Press, Beijing. 32 – 68. [钦俊德, 1980. 昆虫生理学研究进展, 北京: 科学出版社. 32 – 68]

Rattan RS, 2010. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Prot.*, 29: 913 – 920.

Tan H, 2010. Effects of Alkaloids from *Tripterygium wilfordii* Hook. f. on Calcium Pump of Sarcoplasmic Reticulum in Insects. MSc Thesis, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi. [谭浩, 2010. 雷公藤生物碱对昆虫肌质网钙泵的影响. 陕西杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文]

Tong P, He DY, 2016. Research advance of *Tripterygium wilfordii* and its extract in immune regulation of rheumatoid arthritis. *Modern Immunol.*, 36(3): 250 – 252. [童萍, 何东仪, 2016. 雷公藤及其提取物对类风湿关节炎免疫调节机制的研究进展. 现代免疫学, 36(3): 250 – 252]

Wang YC, 2004. Insect Physiology. China Agriculture Press, Beijing. 272 – 291. [王荫长, 2004. 昆虫生理学. 北京: 中国农业出版社. 272 – 291]

Wu WJ, 1988. Introduction to Experimental Techniques of Plant Chemical Protection. Shaanxi Science and Technology Press, Xi′an. 83 – 89. [吴文君, 1988. 植物化学保护实验技术导论. 西安: 陕西科学技术出版社. 83 – 89]

Xu ZF, 2009. General Entomology. Science Press, Beijing. 88 – 92. [许再福, 2009. 普通昆虫学. 北京: 科学出版社. 88 – 92]

Zhang KB, Zhang LQ, 1989. Insect Physiology. Shaanxi Science and

Technology Press，Xi′an. 126 – 147.［张克斌，张六谦 主编，1989. 昆虫生理. 西安：陕西科学技术出版社. 126 – 147］

Zhang X，Ma ZQ，Feng JT，Wu H，Han LR，2015. Review on research and development of botanical pesticides. *Chin. J. Biol. Control*，31（5）：685 – 698.［张兴，马志卿，冯俊涛，吴华，韩立荣，2015. 植物源农药研究进展. 中国生物防治学报，31（5）：685 – 698］

Zhou L，2007. Studies on insecticidal Activity of Total Alkaloid from *Tripterygium wilfordii* Hook. PhD Dissertation，Northwest A&F University，Yangling，Shaanxi.［周琳，2007. 雷公藤总生物碱杀虫作用研究. 陕西杨凌：西北农林科技大学博士学位论文］

（责任编辑：赵利辉）